

INFLUÊNCIA DE DIVERSOS FATORES SOBRE O ENRAIZAMENTO DO PORTA-ENXERTO DE PEREIRA (*PYRUS CALLERYANA*) *IN VITRO*¹

MOACIR PASQUAL² e PATRÍCIA ANDRADE LOPES³

RESUMO - Estudaram-se os fatores que afetam o enraizamento de brotos com meristema terminal de *Pyrus calleryana*. Brotos com 1 cm de comprimento foram inoculados em meio "MS" com pH 5,7 e 7 g/l de ágar acrescido de ANA e AIB a 0,1, 1,0 e 5,0 mg/l e, posteriormente, de IBA a 0,0, 0,125, 0,250, 0,500 e 1,0 mg/l, usando brotos com o sem ranhuras. Por último, foram testadas várias concentrações de sais do meio "MS" (1/3, 1/2, 2/3 e integral) combinadas aos suplementos (glicina 2, tiamina HCl 0,5, piridoxina HCl 0,5, ácido nicotínico 0,5, mioinositol 100 mg/l e sacarose 3%) na concentração recomendada pelo "MS" ou apenas 1/2. Os melhores índices de enraizamento foram obtidos com ANA ou AIB 1,0 mg/l, porém, em segmentos com ranhuras foram observados valores máximos também com AIB 0,25 a 0,5 mg/l. A concentração de sais em 1/3 apresentou 100% de enraizamento quando acrescida dos suplementos integrais.

Termos para inervação: brotos, micropropagação, clonagem, cultura de tecidos, ágar.

INFLUENCE OF SOME FACTORS ON ROOTING OF PEAR ROOTSTOCK *IN VITRO*

ABSTRACT - Factors that affect shoot rooting of pear tree *Pyrus calleryana* were studied. Shoot tips 1 cm long were placed in "MS" medium, pH 5.7 and 7 g L⁻¹ of agar plus NAA and IBA at concentrations of 0.1, 1.0 and 5.0 mg L⁻¹ and some time later IBA at concentrations of 0.0, 0.125, 0.250, 0.500, and 1.0 mg L⁻¹. Finally several salt concentrations (1/3, 1/2, and 2/3 of the total) combined to the supplements (glycine 2, thiamine HCl 0.5, pyridoxin HCl 0.5, nicotinic acid 0.5, myoinositol 100 mg L⁻¹ and sucrose 3%) at concentrations of the "MS" medium or half of that were tested. Best rooting was obtained with NAA or IBA 1 mg L⁻¹, but in shoot tips having grooves, maximum rootings were with 0.25 to 0.5 mg L⁻¹ of IBA. Salt concentrations of 1/3 of the total allowed 100% rooting when added to the complete supplements.

Index terms: shoots, micropropagation, clones, tissue culture, agar.

INTRODUÇÃO

A micropropagação *in vitro* vem-se desenvolvendo como técnica rápida de propagação clonal para numerosas espécies frutíferas. O processo compreende três etapas: multiplicação de brotos terminais, enraizamento, e aclimação das plantas (Cheng 1979).

Além do meio de cultura, o enraizamento é afetado também por vários fatores, como: infecção por patógenos, luz, posição de cultivo

e lignificação dos tecidos. A presença de tecidos lignificados envolvendo o câmbio constitui uma barreira física ao enraizamento de segmentos nodais.

Há estreita ligação entre idade fisiológica da planta e habilidade de enraizamento de estacas, ocorrendo aumento no potencial rizogênico decorrente do rejuvenescimento artificial de estacas (Teixeira 1981).

Para muitas espécies vegetais, a formulação do meio "MS" satisfaz as necessidades de micropropagação *in vitro* (Murashige & Skoog 1962).

A concentração dos sais é importante fator para a emissão e desenvolvimento de brotações e raízes, e Lane (1978, 1979) obteve bons índices de enraizamento com 1/3 e 1/5

¹ Aceito para publicação em 5 de dezembro de 1990

² Eng.-Agr., Dr., Prof.-Adj., Esc. Sup. de Agric. de Lavras (ESAL), Caixa Postal 37, CEP 37200 Lavras, MG. Bolsista do CNPq.

³ No curso de Agronomia da ESAL. Bolsista do CNPq.

da concentração recomendada pelo "MS". Ainda Lane (1980) transferiu explantes com 2 cm de comprimento para meio enraizante, com 1/2 da concentração dos sais de "MS" suplementado com sacarose 3%, vitaminas e ANA, obtendo, após 10 a 15 dias, 80% de enraizamento.

Abbott & Whiteley (1976) observaram um aumento no número de raízes quando brotos de macieira foram cultivados em posição invertida. Pierik & Steegmans (1975) observaram que o enraizamento de *Rhododendron* só ocorreu em brotos invertidos.

Ferimentos também parecem afetar o enraizamento de estacas de *Rhus cotinus* (Rosenkranz 1969) e de *Rhododendron* (Pierik & Steegmans 1975). De acordo com Pontikis et al. (1979), os efeitos dos ferimentos se devem ao aumento da penetração pelo AIB e enfraquecimento dos tecidos parenquimatosos.

Objetivou-se, com o presente trabalho, estudar alguns fatores que afetam o enraizamento do porta-enxerto de pereira, *P. calleryana*.

MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no laboratório de Cultura de Tecidos da Escola Superior de Agricultura de Lavras, em Lavras, MG.

Utilizou-se o meio de cultura "MS", com pH ajustado para 5,7 e solidificado com 7 g/l de ágar. Os brotos, constituídos de segmentos de brotações-terminações obtidas, com aproximadamente 1 cm de comprimento, foram preparados em câmara asséptica de fluxo laminar e inoculados em tubos de ensaio contendo 15 ml de meio.

No primeiro experimento foram testadas várias concentrações de ácido naftalenacético - ANA - (0,0, 0,1, 1,0 e 5,0 mg/l) e ácido indolebutírico - AIB - (0,0, 0,1, 1,0 e 5,0 mg/l) adicionadas ao meio "MS".

No segundo experimento, utilizou-se o AIB (0,0, 0,125, 0,250, 0,500 e 1,0 mg/l). Em cada tratamento foram usados brotos submetidos a um ferimento (ranhuras) na base, e brotos sem ferimento. Estas ranhuras foram feitas com um estilete.

No terceiro experimento incluíram-se várias concentrações de sais (macro e micronutrientes) do meio

"MS" (1/3, 1/2, 2/3 e integral), combinadas aos seguintes suplementos (mg/l): glicina 2,0, vitaminas (tiamina HCl 0,5, piridoxina HCl 0,5, ácido nicotínico 0,5), mioinositol 100 e sacarose 3%, cujos tratamentos são mostrados na Tabela 1. Utilizou-se AIB 0,5 mg/l e brotos com ranhuras na base.

Para todos os casos, o delineamento experimental usado foi o inteiramente causalizado, com dez repetições. Os experimentos foram conduzidos em salas de crescimento com temperatura controlada (27°C) e luminosidade (3.000 lux) durante 16 horas por dia.

A avaliação foi realizada 30 dias após a inoculação, registrando-se a percentagem de brotos enraizados. Para efeito de análise estatística, os dados foram transformados para "arc sen $\sqrt{\%}$ ".

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 2 e Fig. 1, pode-se comparar as concentrações 0,1, 1,0 e 5,0 mg/l de ANA e AIB. Verificam-se índices mais elevados de enraizamento para ambos os reguladores de crescimento em 1,0 e 5,0 mg/l, não diferindo significativamente entre si.

Num segundo experimento (Tabela 3), onde foram usadas concentrações intermediárias a 0,1 e 1,0 mg/l de AIB, houve confirmação dos resultados anteriores, evidenciando como melhor tratamento AIB 1,0 mg/l para os brotos que não foram feridos. Nestes brotos sem ra-

TABELA 1. Tratamentos resultantes da combinação de várias concentrações de sais com outros suplementos do meio "MS".

Tratamento	Concentração de sais do meio "MS"	Concentração dos suplementos
1	1/3	Integral
2	1/2	Integral
3	2/3	Integral
4	Integral	Integral
5	1/2	1/2
6	Integral	1/2
7	Integral	Integral (glicina 1/2)
8	Integral	Integral (mioinositol 1/2)
9	Integral	Integral (sacarose 1/2)
10	Integral	Integral (vitaminas 1/2)

nhuras notou-se um aumento lento e progressivo da percentagem de enraizamento, à medida que se aumentou a concentração de AIB, ao passo que quando se utilizaram brotos com ranhuras, este aumento foi brusco (Fig. 2). A concentração de AIB necessária ao enraizamento de brotos com ranhuras foi sensivelmente inferior à de brotos sem ranhuras, registrando-se, com AIB 0,25 mg/l, uma percentagem de enraizamento bem elevada (80%).

Existem evidências para outras espécies do uso de ferimentos dos brotos com o intuito de facilitar o enraizamento; porém, em alguns ca-

TABELA 2. Enraizamento (%) de brotos de pereira (*Pyrus calleryana*) cultivados *in vitro*, em meio "MS" acrescido de diferentes concentrações de ANA e AIB.

Tratamentos (mg/l)	Enraizamento (%)	Observações
Testemunha	5,0 b	
ANA - 0,1	5,0 b	
ANA - 1,0	85,0 a	Apenas início de formação de raízes
ANA - 5,0	85,0 a	Apenas início de formação de raízes
AIB - 0,1	0,0 b	
AIB - 1,0	60,0 a	Raízes bem desenvolvidas
AIB - 5,0	85,0 a	Raízes grossas e mal desenvolvidas

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a 5%.

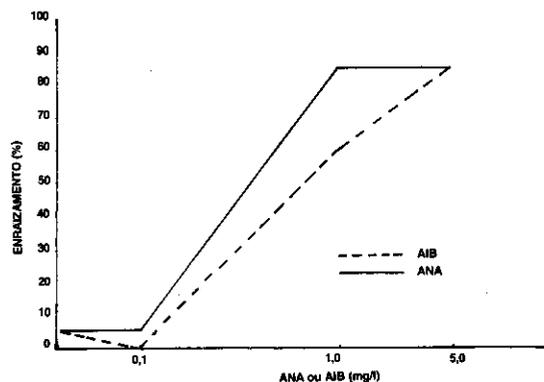


FIG. 1. Percentagem de enraizamento de brotos de *Pyrus calleryana* em presença de diversas concentrações de ANA e AIB.

sos, os resultados são contraditórios. Este efeito parece estar associado à facilidade de penetração do AIB quando o explante é ferido. A posição dos brotos é algumas vezes citada (Abbott & Whiteley 1976 e Pierik & Steegmans 1975) como fator importante no enraizamento, e a posição invertida tem auferido os melhores resultados para macieira e *Rhodendron*.

O meio "MS" de cultura possui uma concentração de sais (macro e micronutrientes) considerada elevada, tornando-se, inclusive, prejudicial ao enraizamento de brotos, como pode ser visto na Tabela 4. Melhores resultados foram obtidos com 1/3 da concentração de sais, não diferindo estatisticamente de 1/2 e 2/3. Os suplementos nas concentrações indicadas por Murashige & Skoog (1962) mostra-

TABELA 3. Enraizamento (%) de brotos de *Pyrus calleryana* com e sem ranhuras em meio "MS" acrescido de diferentes concentrações de AIB.

Tratamentos	Concentrações de AIB (mg/l)				
	0,0	0,125	0,250	0,500	1,000
Sem ranhuras	0	20	0	20	100
Com ranhuras	0	0	80	100	100

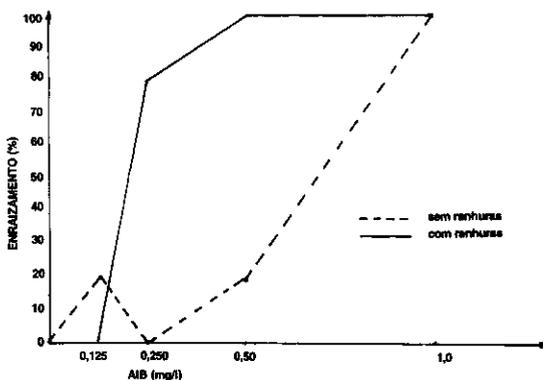


FIG. 2. Percentagem de enraizamento de brotos de *Pyrus calleryana*, com e sem ranhuras em diferentes concentrações de AIB.

TABELA 4. Percentagem de enraizamento de *Pyrus calleryana* em diferentes concentrações de sais e suplementos do meio MS.

Tratamentos	Enraizamento	
	Médio	Máximo
1	100 a	100
2	66,6 a	100
3	53,3 a	60
4	20,0 b	40
5	30,0 b	50
6	20,0 b	40
7	56,6 a	60
8	16,6 b	30
9	6,6 b	20
10	13,3 b	20

Os dados seguidos da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey 5%.

ram-se necessários no enraizamento, pois nos melhores tratamentos eles foram utilizados integralmente, à exceção da glicina, que no tratamento 7 foi utilizada pela metade e os resultados não diferiram dos melhores tratamentos.

Estes resultados estão de acordo com citações de Lane (1978, 1979), segundo as quais a concentração dos sais exerce influência sobre a emissão e desenvolvimento do sistema radicular. O mesmo autor obteve até 80% de enraizamento, utilizando apenas 1/3 e 1/5 da concentração dos sais do meio "MS".

CONCLUSÕES

1. Índices satisfatórios de enraizamento foram obtidos com ANA ou AIB 1,0 mg/l acrescido ao meio "MS".

2. Ranhuras na base dos brotos permitem reduzir as concentrações de AIB para 0,25 a 0,50 mg/l, para se obter bom enraizamento.

3. Os sais do meio "MS" na concentração de 1/3, e suplementos integrais, proporcionam o máximo de enraizamento.

REFERÊNCIAS

- ABBOTT, A.J.; WHITELEY, E. Culture of *Malus* tissues *in vitro*. I. Multiplication of apple plants from isolated shoot apices. **Scientia Horticulturae**, v.4, p.183-189, 1976.
- CHENG, T.Y. Micropropagation of clonal fruit tree rootstocks. **Compact Fruit Tree**, v.12, p.127-137, 1979.
- LANE, W.D. Regeneration of apple plants from shoot meristem tips. **Plant Science Letters**, v.13, p.281-285, 1978.
- LANE, W.D. Regeneration of pear plants from shoot meristem tips. **Plant Science Letters**, v.16, p.337-342, 1979.
- LANE, W.D. Test tube propagation of pear and apple. **Canada Agriculture**, v.25, n.2, p.24-26, 1980.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v.15, p.473-497, 1962.
- PIERIK, R.L.M.; STEEGMANS, H.H.M. Analysis of adventitious root formation in isolated stem explants of *Rhododendron*. **Scientific Horticulture**, v.3, p.1-20, 1975.
- PONTIKIS, C.A.; MACKENZIE, K.A.D.; HOWARD, B.H. Establishment of initially unrooted stool shoots of M.27 apple rootstock. **Journal of Horticultural Science**, v.54, p.79-85, 1979.
- ROSENKRANZ, L. Experiments in rooting hardwood cuttings of *Rhus cotinus* 'Royal Purple' Red Smoke Tree. **Proc. Int. Pl. Prop. Soc.**, v.19, p.118-119, 1969.
- TEIXEIRA, S.L. **Factors affecting rhizogenesis in stem cuttings**. Riverside: University of California, 1981. 222p. Tese Doutorado.